

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

João Carlos Fonseca da Silva

**PERFIL HORMONAL E INGESTÃO ALIMENTAR DE RATAS OBESAS COM
RESTRIÇÃO TEMPORAL DO ALIMENTO NO PERÍODO INATIVO DO CICLO
CIRCADIANO**

**RECIFE
2024**

JOÃO CARLOS FONSECA DA SILVA

**PERFIL HORMONAL E INGESTÃO ALIMENTAR DE RATAS OBESAS COM
RESTRIÇÃO TEMPORAL DO ALIMENTO NO PERÍODO INATIVO DO CICLO
CIRCADIANO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação
em Nutrição da Universidade Federal
de Pernambuco como requisito para
obtenção de grau de Nutricionista.

Área de concentração: Bases
Experimentais em Nutrição

Orientadora: Elizabeth do Nascimento
Coorientadora: Vitória Felício Souto

RECIFE

2024

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

Silva, João Carlos Fonseca da .

Perfil hormonal e ingestão alimentar de ratas obesas com restrição temporal do alimento no período inativo do ciclo circadiano / João Carlos Fonseca da Silva. - Recife, 2024.

38 p. : il.

Orientador(a): Elizabeth do Nascimento

Coorientador(a): Vitória Felício Souto

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Nutrição - Bacharelado, 2024.

Inclui referências, anexos.

1. Hormônios. 2. Restrição temporal do alimento. 3. Crononutrição. 4. Obesidade. 5. Ingestão alimentar. I. Nascimento, Elizabeth do. (Orientação). II. Souto, Vitória Felício. (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

JOÃO CARLOS FONSECA DA SILVA

**PERFIL HORMONAL E INGESTÃO ALIMENTAR DE RATAS OBESAS COM
RESTRIÇÃO TEMPORAL DO ALIMENTO NO PERÍODO INATIVO DO CICLO
CIRCADIANO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Nutrição da Universidade Federal de
Pernambuco, como requisito para
obtenção do grau de Nutricionista.

Área de concentração: Bases
Experimentais em Nutrição.

Aprovado em: 19/03/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Ma. Vitória Felício Souto (coorientadora)
Departamento de Nutrição - UFPE

Prof^a. Dra. Gisélia de Santana Muniz
Departamento de Nutrição - UFPE

Prof^a. Dra. Maria Goretti Pessoa de Araújo Burgos
Departamento de Nutrição - UFPE

AGRADECIMENTOS

Minha nossa, como eu sou grato até aqui! Feliz daquele que, em meio às dificuldades, é amparado e motivado a continuar. O meu caso. Agradeço a Deus, por me dar vitalidade e ser uma fonte incansável de perseverança, certamente fatores estes cruciais para continuar a decolagem em busca do que eu sonho. Também sou grato pelo apoio familiar, especialmente da minha mãe, Maria Clara, que não hesita em depositar confiança na minha dedicação. Ela, quem me escuta e aconselha nas dificuldades, não só para construir minha carreira profissional, mas para levar a vida. E que diferença tem feito.

Esse trabalho só nasceu, porque uma pessoa muito especial abraçou a ideia: minha orientadora, Elizabeth. Muito obrigado por todo investimento em refinar meu desenvolvimento acadêmico e científico. A senhora é inspiração. É bem verdade que uma ideia boa não surge do nada, ela precisa de uma pessoa interessada, uma oportunidade e um guia: assim foi o progresso da minha iniciação científica, onde conheci minha coorientadora. Vitória Felício, você sabe bem que sequer cabe aqui todo o aprendizado que você me deu, mas eu bem que poderia agrupar em organização, planejamento, dedicação, melhor escrita, dicas, base científica. Eu realmente sou grato por ter iniciado minha jornada científica com ajuda de uma pessoa que transborda comprometimento. Gratidão, gratidão, gratidão. E por falar em jornada científica, Lara e Juan foram importantíssimos para uma etapa experimental bem sucedida. Fernando, você me salvou com a estatística e sempre esteve disponível para ajudar nas rotinas de escrita. Obrigado demais, gente!

Como um produto da minha graduação, confesso que muito amadureci até aqui. Iniciar ensino superior na pandemia, partir para rotina presencial e lidar com vários dias longos na universidade foram apenas o começo dos desafios. Claro que estar junto de quem se ajuda torna o processo um tanto mais leve, e foi o que aconteceu perto dos meus amigos, que conheci na turma 110. Gente, muito obrigado por estarem pertinho durante toda a rotina atarefada e exaustante que tivemos, sem vocês tudo seria muito mais complicado. Obrigado, de verdade.

RESUMO

A obesidade é uma doença em crescente expansão e com múltiplos efeitos deletérios para a saúde. Diante deste cenário, a Restrição Temporal do Alimento (RTA) surge como uma alternativa para auxiliar na perda de peso. A RTA é uma linha de jejum intermitente associada ao ritmo circadiano, isto é, há controle do horário da ingestão, mas, não necessariamente, do total calórico consumido por dia. Entretanto, existem muitas incertezas e controvérsias, visto a variedade de protocolos e das variáveis influentes. A literatura carece de resultados analisando as repercussões hormonais de 12h de RTA no período inativo, o que torna importante mais estudos, a fim de entender a resposta desse jejum frente aos hormônios, especialmente os femininos e, assim, legitimar seu uso. O objetivo desta pesquisa é analisar o perfil hormonal e ingestão alimentar de ratas obesas que passaram por restrição temporal do alimento no período inativo. O desenho experimental é formado por 17 ratos *Wistar* fêmeas, divididas em dois grupos: grupo obeso *ad libitum* (O) e grupo obeso com restrição de alimento na fase inativa ou clara do ciclo circadiano (OR), que foram induzidas à obesidade com a dieta ocidentalizada por 7 semanas após o desmame (O: n= 8; OR: n= 9). Foi utilizado o ciclo de luz invertido. Nas 4 semanas seguintes, o grupo OR iniciou o protocolo de RTA de 12h de fase clara. Por fim, houve avaliação das variáveis analisadas e da eutanásia. A significância considerada foi de $p < 0,05$. Como resultados, não houve variação significativa do peso corporal. A ingestão alimentar semanal e a ingestão alimentar acumulada foram menores para o grupo OR, tanto no período de indução à obesidade, quanto no período de RTA. A ingestão alimentar circadiana, por sua vez, mostrou picos de consumo para o grupo OR no início da fase clara. O valor plasmático de progesterona foi reduzido (O= $0,952 \pm 0,459$; OR= $0,339 \pm 0,157$; $p = 0,0035$), porém o estrógeno, leptina e insulina não diferiram entre os grupos. Em conclusão, o uso de RTA no período inativo reduziu os valores circulantes de progesterona e a ingestão alimentar/energética semanal e acumulada, mas, não reduziu o peso corporal. Estes achados reforçam a importância do alinhamento do período de alimentação com o funcionamento do relógio biológico circadiano.

Palavras-chave: crononutrição; dieta ocidental; jejum intermitente; obesidade; ratos *Wistar*.

ABSTRACT

Obesity is a disease on the rise with multiple detrimental effects on health. In this context, Time-Restricted Feeding (TRF) emerges as an alternative to assist in weight loss. TRF involves intermittent fasting associated with the circadian rhythm, meaning there is control over the timing of food intake, but not necessarily the total daily caloric intake. However, there are many uncertainties and controversies due to the variety of protocols and influential variables. The literature lacks results analyzing the hormonal repercussions of a 12-hour TRF during the inactive period, making further studies important to understand the fasting response to hormones, especially female hormones, and thus legitimize its use. The aim of this research is to analyze the hormonal profile and food intake of obese rats that underwent time-restricted feeding during the inactive period. The experimental design consisted of 17 *Wistar* rats, divided into two groups: fed *ad libitum* (O) and fed restricted to light phase (OR), which were induced into obesity for 7 weeks with a Westernized diet, using an inverted light cycle after weaning (O: n= 8; OR: n= 9). In the following 4 weeks, the OR group started the 12-hour TRF protocol in the light phase. Finally, the evaluated variables and euthanasia were performed. The significance level considered was $p < 0,05$. As results, there was no significant variation in body weight. Weekly and cumulative food intake were lower for the OR group, during the induction of obesity and TRF period. Circadian food intake showed consumption peaks for the OR group at the beginning of the light phase. Plasma progesterone levels were reduced (O= 0.952 ± 0.459 ; OR= 0.339 ± 0.157 ; $p = 0.0035$), but estrogen, leptin and insulin did not differ between groups. Therefore, TRF in the inactive period reduced circulating progesterone levels and weekly/cumulative food/energy intake but did not reduce body weight. These findings emphasize the importance of aligning feeding periods with the circadian biological clock.

Keywords: chrononutrition; western diet; intermittent fasting; obesity; *Wistar* rats.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	11
3 OBJETIVOS	15
3.1 Objetivo geral	15
3.2 Objetivos específicos	15
4 METODOLOGIA	16
4.1 Desenho do estudo	16
4.2 Restrição temporal do alimento (RTA)	16
4.3 Avaliação murinométrica	17
4.4 Dosagem hormonal	17
4.5 Análise estatística	18
5 RESULTADOS	19
5.1 Variação no peso corporal	19
5.2 Ingestão alimentar semanal média	20
5.3 Ingestão alimentar acumulada média	22
5.4 Ingestão alimentar circadiana	23
5.5 Valores hormonais plasmáticos	24
5.5.1 Estrógeno	24
5.5.2 Progesterona	25
5.5.3 Leptina	26
5.5.4 Insulina	27
6 DISCUSSÃO	28
7 CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS	33
ANEXO	38

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica não transmissível (DCNT) de crescimento alarmante, o que a configura como um problema nutricional global. De maneira geral, o estabelecimento dessa condição diz respeito ao estilo de vida, que, muitas vezes, é negativamente influenciado pelo ambiente (Caballero, 2019), devido à facilidade de acesso aos alimentos ultraprocessados e à rotina sedentária. Consequentemente, outras DCNTs, como: diabetes mellitus, doenças cardiovasculares e câncer são potenciais patologias desenvolvidas (Noce, Romani e Bernini, 2021). Segundo Adafer *et al.* (2020), o prolongamento do período diário de alimentação pode contribuir para o surgimento de obesidade e doenças correlatas.

Diante desse cenário, a Restrição Temporal do Alimento (RTA) surge como uma estratégia para o controle de peso. Esse protocolo de alimentação é derivado do jejum intermitente e controla por quanto tempo a janela alimentar fica ativa, sendo 8 a 12h o intervalo médio mais comum. A RTA não controla a ingestão total de alimentos ou de energia, o que a coloca em uma posição vantajosa frente à restrição calórica (Moon *et al.*, 2020). Ademais, estudos da literatura (Jamshed *et al.*, 2019; Adafer *et al.*, 2020) abordam a RTA alinhada ao ritmo circadiano, na medida em que o momento de alimentação e jejum podem dialogar com as respostas metabólicas, fisiológicas e comportamentais correspondentes, o que inclui a secreção hormonal. Contudo, é necessário analisar de que maneira o metabolismo é modulado e as respostas associadas, sobretudo os níveis hormonais, quando esse protocolo é aplicado no período inativo do modelo experimental.

A importância de estudar o ritmo circadiano se dá pelo mesmo ser uma ferramenta de organização temporal para a fisiologia dos seres vivos, à medida em que guia os processos metabólicos por meio de 'zeitgebers', isto é, pistas ambientais, tais como as fases de claro/escuro e de alimentação/jejum. A ritmicidade dos eventos biológicos é determinada, no ser humano, pelo núcleo supraquiasmático (SCN), localizado no hipotálamo, e pode ser arrastada ou sincronizada pela luz (Chaix, Zarrinpar e Panda, 2016). Portanto, definir o momento de se alimentar é de extrema relevância, tal qual pontua Chambers, Seidler e Barrow (2023). Trabalhos na literatura já mostraram que a ocorrência de uma ruptura crono-basal, ou seja, a desregulação metabólica por inversão do horário de sono

e/ou alimentação, como visto em crianças que passam a noite assistindo, por exemplo, aumenta a chance de desenvolvimento de sobrepeso ou obesidade. Dentro desse contexto, usar o protocolo de RTA no período inativo sugere uma desregulação metabólica, especificamente do perfil hormonal, cujos danos podem afetar, inclusive, o ciclo estral das ratas.

É prudente pontuar que o comportamento hormonal é modulado pelo sistema circadiano, com expressões e inibições específicas ao longo do dia. Todavia, há uma desregulação de hormônios metabólicos em indivíduos com excesso de peso (Wang *et al.*, 2021). Entre os hormônios alterados estão a insulina, leptina, estrógeno e progesterona.

Diante das evidências supracitadas, percebe-se a importância de uma estratégia para além da restrição calórica, que possa ajudar a corrigir o desbalanço hormonal causado pela obesidade. A RTA se apresenta como uma possibilidade de preencher essa lacuna, haja vista sua potencial capacidade de diminuir os efeitos prejudiciais causados pela disrupção circadiana e trazer melhorias metabólicas. Um exemplo disso, de acordo com Haupt *et al.* (2021), é a regulação do metabolismo dos carboidratos e lipídeos, através de uma reorganização hormonal da insulina e leptina.

Entretanto, o comportamento dos níveis hormonais é pouco explorado na literatura, quando associado à RTA no período inativo. Esta lacuna subsidia o interesse na realização de estudos com RTA no período inativo, a fim de avaliar as repercussões nos parâmetros hormonais. Logo, o projeto mimetizou no modelo experimental animal o hábito de atividade noturna de crianças, no horário que deveriam estar de repouso. Portanto, o estudo tem como proposta avaliar se há desregulação hormonal em fêmeas com alimentação restrita ao período claro do ciclo 24h, e se existe associação com a desregulação metabólica.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O jejum intermitente é uma intervenção dietética que alterna entre um período de jejum e um período de alimentação normal, sendo comum de 1-3 dias por semana. Há dois tipos de jejum intermitente muito praticados: o jejum em dias alternados (JDA) e a restrição temporal do alimento (RTA). O JDA consiste em um dia de jejum, com restrição calórica total, seguido por um dia de alimentação *ad libitum*. A RTA, por sua vez, limita o consumo diário a uma janela alimentar de 4 a 12 horas. Independente do valor energético consumido, a condição é manter o período de alimentação diário consistente (Adafer *et al.*, 2020).

As variáveis ambientais, como o ciclo claro/escuro e o horário do dia em que a ingestão alimentar é realizada, influenciam o funcionamento fisiológico de roedores, manifestando variados comportamentos de secreção hormonal, ciclo sono-vigília, temperatura corporal e frequência cardíaca. Essas atividades são mediadas a nível de núcleo supraquiasmático hipotalâmico (Blagonravov *et al.*, 2018). No estudo de Bilibio *et al.* (2023), ratas *Wistar* em consumo de dieta hiperlipídica e RTA de 14h, com maior parte da restrição no período ativo, tiveram redução do peso corporal.

Os achados de Alves *et al.* (2021), mostram que a aplicação da RTA com exposição à dieta ocidentalizada modifica o metabolismo de ratos *Wistar*. Os autores induziram a obesidade em um grupo de roedores durante 60 dias e posteriormente os trataram com RTA de 8h da fase escura nos 120 dias seguintes. Como resultado, verificaram redução do peso corporal dos roedores com obesidade induzida por dieta.

Vale ressaltar, porém, que estudos clínicos prévios com sobrepeso e obesidade, mostram que a RTA pode resultar em ingestão calórica reduzida, por redução do apetite, e, isso está associado a uma diminuição no peso corporal e massa gorda em específico (Hutchinson *et al.*, 2019; Anton *et al.*, 2019; Antoni *et al.*, 2018; Wilkinson *et al.*, 2020). Ravussin *et al.* (2019) reitera a diminuição do apetite, destacando que essa resposta facilita a perda de peso, haja vista a maior oxidação de gordura.

Diante da relevância da RTA para o metabolismo, nota-se que sua repercussão nos ritmos circadianos hormonais tem recebido pouca atenção. Dada a

relevância conhecida das alterações hormonais circadianas para a fisiologia normal, os efeitos prejudiciais da desregulação hormonal merecem ser discutidos com cautela (Kim *et al.*, 2021). É válido salientar que investigações pré-clínicas do impacto hormonal são escassas, quando associadas à RTA.

Na obesidade, os adipócitos hipertrofiados aumentam a lipólise basal induzida por catecolaminas, o que aumenta o fluxo de ácidos graxos livres e pode causar resistência à insulina no fígado ou prejudicar diretamente a função das células β e a secreção de insulina pancreática (Bluher, 2016).

A leptina, considerada um hormônio anorexígeno, é altamente expressa em indivíduos com excesso de peso, sendo, inclusive, mais elevada em homens do que em mulheres, diferença que diminui após menopausa. Originalmente considerada como o elo crucial entre a adiposidade corporal e os controles da alimentação, a leptina é agora considerada uma defesa apenas contra reduções no peso corporal, não contra aumentos de peso. Isso ocorre, pois a hiperexpressão no público em questão pouco direciona o controle de peso corporal, o que configura resistência à leptina (Leeners *et al.*, 2017).

Os níveis séricos de glicose e insulina em jejum aumentaram em ratos *Sprague-Dawley* que foram submetidos à RTA nas 3h iniciais do ciclo escuro e estavam com dieta hiperlipídica, devido à resistência insulínica associada. Nesse estudo, também foi constatado redução na concentração de grelina, sugerindo uma saciedade maior e, provavelmente, leptina também (Park *et al.*, 2017).

Do ponto de vista clínico, uma RTA de, no mínimo, 6h da fase ativa, com variação de 5 a 12 semanas, reduziu a insulina em jejum e pós-prandial em homens com pré-diabetes; em homens e mulheres com diabetes tipo 2, acompanhada de perda de peso e em indivíduos saudáveis, acompanhados de perda de peso. Esse protocolo não proporcionou maior sensação de fome, pois a ingestão de alimentos continuou fornecendo o mesmo total calórico. A RTA, inclusive, diminui o desejo e a capacidade de comer e aumenta a sensação de saciedade pós-jejum (Sutton *et al.*, 2018; Che *et al.*, 2021; Cienfuegos *et al.*, 2020). Já em estudos experimentais com roedores, Han *et al.* (2022) relata que tal restrição reduz os hormônios do apetite, como a grelina, e o peso corporal. Logo, sugere-se uma possível manutenção ou aumento dos níveis de leptina em ratas induzidas à obesidade.

Os estrógenos desempenham um papel importante nas causas e consequências da obesidade feminina. Eles estimulam o aumento do tecido adiposo subcutâneo gluteofemoral e a diminuição do tecido adiposo central em mulheres em idade reprodutiva, o que leva a efeitos cardiometabólicos protetores. A inibição da produção de estrogênio após a menopausa aumenta o tecido adiposo e diminui a massa corporal magra, de modo que há pouco efeito líquido sobre o peso corporal. A menopausa também reverte parcialmente a distribuição protetora de tecido adiposo das mulheres. No que diz respeito à alimentação, o aumento dos níveis de estrógeno diminui progressivamente a ingestão alimentar durante as fases folicular e periovulatória do ciclo menstrual (Leeners *et al.*, 2017).

Descontrole nos níveis de progestina, forma sintética da progesterona produzida pelo organismo, também estão relacionados ao excesso de peso no público feminino. Esse quadro pode aumentar a compulsão alimentar e a alimentação estimulada por estados emocionais negativos durante a fase lútea, eventos estes compatíveis com um estilo de vida que leva à obesidade (Leeners *et al.*, 2017).

Sadowska, Dudzińska e Dziaduch (2022) investigaram o efeito de uma dieta rica em sacarose e aplicação de jejum intermitente de um dia nos hormônios sexuais de ratas *Wistar*. Entre os grupos experimentais, aquele que fez jejum em um dia da semana teve menor duração da fase estral, com ciclos irregulares e abundantes. Além disso, o nível de progesterona foi menor e o de estradiol, em contrapartida, maior. Esses fatores indicam que o jejum intermitente é importante na modificação adversa da secreção de hormônios sexuais femininos.

Mulheres com sobrepeso e obesidade apresentam níveis mais elevados de estrogênio em relação às suas contrapartes com peso normal. Por isso, a RTA é uma ferramenta promissora para controlar os níveis desse hormônio. No que diz respeito à progesterona, ela permaneceu inalterada em mulheres pós-menopausa submetidas a RTA de 8 semanas (Cienfuegos *et al.*, 2020; Kalam *et al.*, 2023).

Portanto, fica evidente que os níveis hormonais são modulados pela RTA, com comportamento atípico fisiologicamente, embora existam lacunas sobre como isso se dá em ensaios pré-clínicos, especificamente com jejum no ciclo inativo e 12h de duração. Nesse sentido, os achados experimentais da pesquisa se mostram

promissores para um uso desse jejum intermitente de maneira mais direcionada e consciente na população.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Analisar perfil hormonal e ingestão alimentar de ratas obesas submetidas à restrição temporal do alimento no período inativo do ciclo circadiano.

3.2 Objetivos específicos

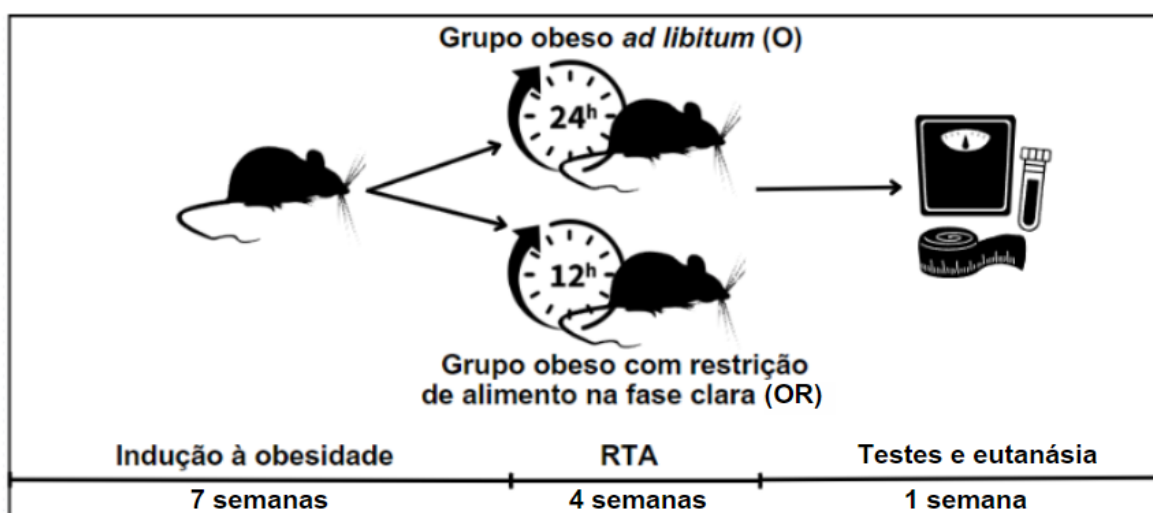
- Determinar a variação no peso corporal das ratas;
- Avaliar a ingestão alimentar antes e durante intervenção da restrição temporal do alimento, bem como a curva circadiana na fase clara e escura;
- Quantificar as concentrações hormonais plasmáticas de estrógeno, progesterona, insulina e leptina.

4 METODOLOGIA

4.1 Desenho do estudo

O desenho experimental foi composto por 17 ratos *Wistar* fêmeas provenientes da colônia do departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os animais foram mantidos no biotério Naíde Regueira Teodósio compondo dois grupos experimentais: grupo obeso *ad libitum* (O) e grupo obeso com restrição de alimento na fase clara (OR). As ratas foram mantidas por 7 semanas, desde o desmame (21 dias), em dieta obesogênica (estilo ocidental) *ad libitum* para induzir alterações fisio-metabólicas ou antropométricas, como ganho de peso/gordura excessiva e aumento da glicemia e lipemia. Após esse período, o grupo OR iniciou a RTA e o grupo O permaneceu *ad libitum*, ambos com dieta obesogênica, por 4 semanas até a eutanásia. As ratas foram decapitadas por guilhotina, sem utilização de anestesia. O projeto foi encaminhado e aprovado na Comissão de ética em uso de animais (CEUA) do Centro de Biociências da UFPE sob registro nº. 0017/2022, ilustrado no Anexo A.

Figura 1 – O desenho do estudo.



O: n= 8, grupo ocidentalizado; OR: n= 9, grupo RTA (Fonte: o autor, 2023).

4.2 Restrição temporal do alimento (RTA)

Após desmame, as ratas foram mantidas em gaiolas individuais (1 animal por gaiola) com ciclo de luz invertido: claro (20:00 às 08:00) e escuro (08:00 às 20:00), em condições controladas e com temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 1$, umidade relativa de 45-50%.

A dieta indutora de obesidade foi a dieta ocidentalizada, possuindo 39,68% carboidrato; 24,50% proteína e 35,80% lipídio, totalizando 4,6kcal/g; e adaptada de Ferro-Cavalcante *et al.* (2014). A dieta foi elaborada em forma de *pellets* e ofertada a cada dois dias para evitar excesso de umidade e alteração da palatabilidade. Após um período de 7 semanas, quando foram detectadas mudanças fenotípicas, como o peso corporal aumentado, as ratas do grupo OR foram submetidas ao protocolo de restrição alimentar. O grupo restrito estava com a janela alimentar ativa durante 12h da fase clara, período da RTA, e com janela alimentar inativa durante as 12h da fase escura por 4 semanas. Já o grupo obeso, permaneceu com alimentação *ad libitum* todo o período. O protocolo de intervenção foi de 30 dias, seguido por avaliação das variáveis analisadas e eutanásia. Os grupos foram manuseados ao mesmo tempo para controlar o estresse de manipulação e minimizar a variação experimental entre os grupos (Balcombe *et al.*, 2014).

4.3 Avaliação murinométrica

Para o acompanhamento do estado nutricional foi mensurado o peso corporal, medidas de circunferências e índices que refletem adiposidade ou excesso de peso. O peso foi mensurado semanalmente por meio de balança eletrônica digital Bel© (modelo L2102) durante todo o período experimental. Ao final, foram calculados o índice de massa corporal (IMC) e o índice de Lee, pelas respectivas fórmulas: $IMC (g/cm^2) = peso / (comprimento\ naso\ anal)^2$; $Índice\ de\ Lee\ (g/cm)^{1/3} = \sqrt[3]{peso / comprimento\ nasoanal}$, assim como, a gordura visceral, segundo o protocolo de Novelli (2007). Para a medida da circunferência torácica foi posicionada uma fita métrica não extensível, posteriormente às patas dianteiras do animal; e para a medição da circunferência abdominal, essa fita métrica foi posicionada anteriormente às patas traseiras.

4.4 Dosagem hormonal

A dosagem hormonal plasmática foi realizada no Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), por meio de kit de ELISA da ELK Biotechnology®. A leitura dos valores de insulina, leptina, progesterona e estrógeno foi feita com a microplaca DR-200B-NM.

4.5 Análise estatística

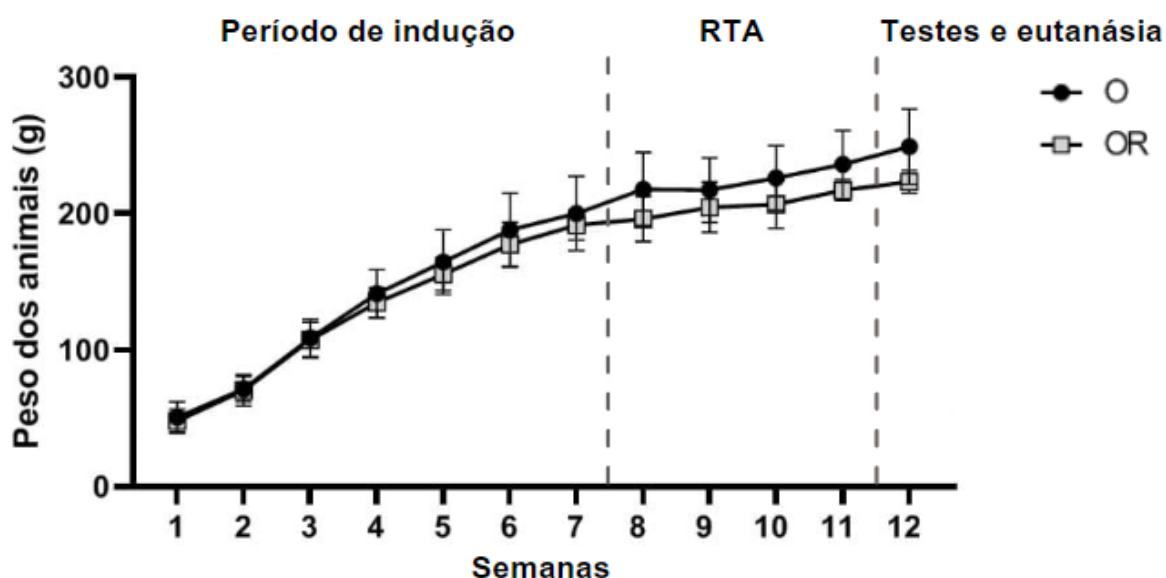
Os dados foram testados para normalidade com Shapiro-Wilk. Para os dados de peso e dosagem hormonal foi utilizado o Teste “t” de Student não pareado com significância $p < 0,05$. Para os dados de ingestão alimentar, foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) *two-way*, seguido pelo pós-teste de Holm-Sidak, com significância $p < 0,05$. Os testes foram realizados utilizando o software GraphPad Prism v9.0.

5 RESULTADOS

5.1 Variação no peso corporal

A análise murinométrica mostrou ganho de peso ao longo do período experimental, mas não houve variação significativa do peso entre os grupos. Eles iniciaram com ($O = 50,9 \pm 11,1$; $OR = 48,1 \pm 8,8$; $p = 0,9999$) e, ao final do estudo, apresentaram ($O = 249,1 \pm 27,6$; $OR = 218 \pm 17,6$; $p = 0,0548$).

Figura 1 – Variação no peso corporal de ratas submetidas à dieta obesogênica (O) e obesogênica com RTA (OR).

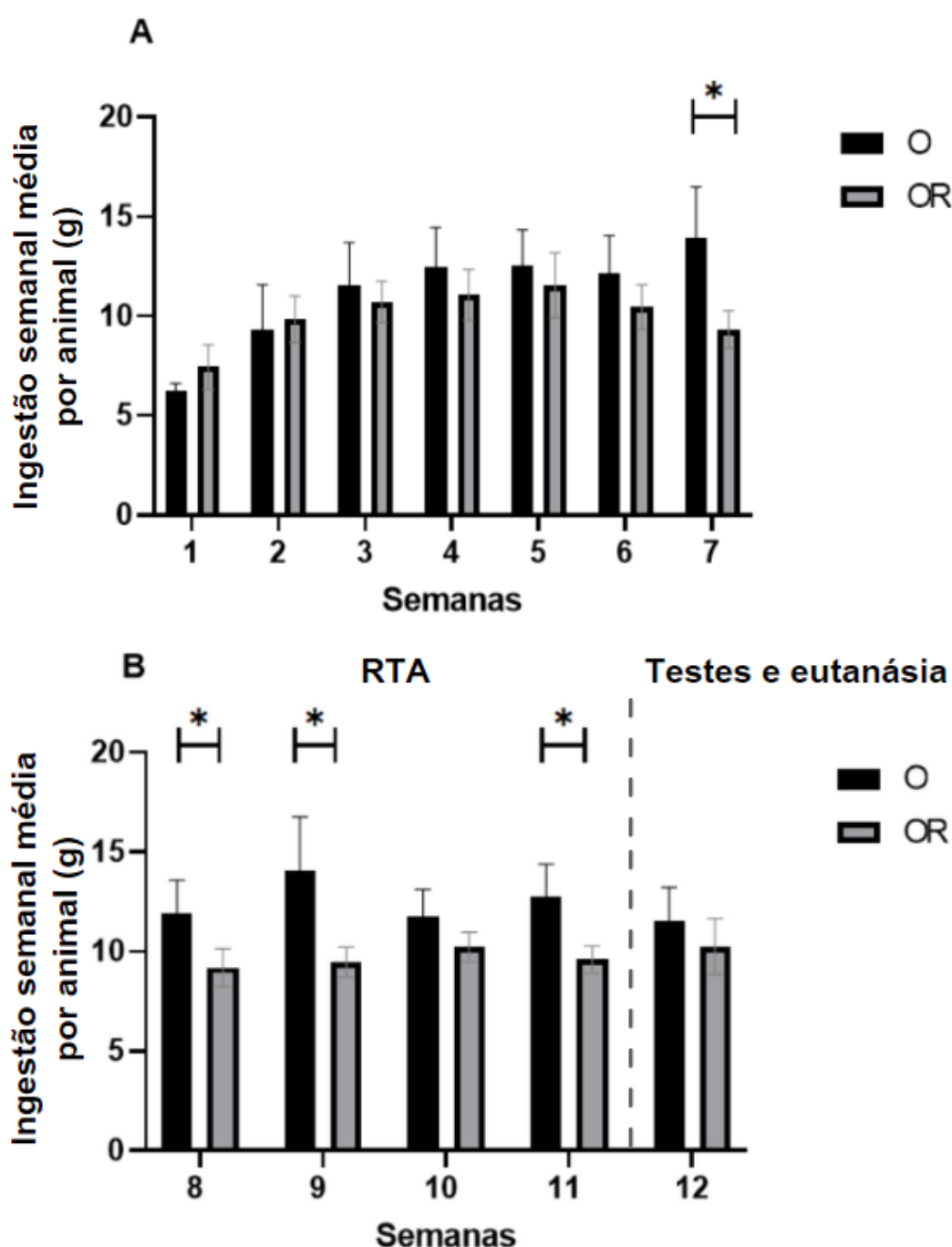


Ratas *Wistar* foram expostas à dieta ocidentalizada para indução à obesidade (grupo O e OR) durante 7 semanas e então o grupo OR foi submetido à RTA por um período de 4 semanas. O: $n = 8$, grupo ocidentalizado; OR: $n = 9$, grupo RTA. ANOVA de duas vias com post-hoc de Sidak ($p < 0,05$) (Fonte: o autor, 2023).

5.2 Ingestão alimentar semanal média

A ingestão alimentar semanal média foi menor para o grupo OR, tanto no período de indução à obesidade, com destaque para a 7ª semana, quanto no período de RTA, com destaque para a 8ª ($O=11,9 \pm 1,7$; $OR= 9,2 \pm 0,9$; $p= 0,0116$), 9ª ($O= 14,1 \pm 2,7$; $OR= 9,5 \pm 0,8$; $p= 0,0079$) e 11ª ($O= 12,6 \pm 2,3$; $OR= 9,6 \pm 0,7$; $p= 0,0173$) semanas.

Figura 2 – Ingestão alimentar semanal média de ratas submetidas à dieta obesogênica (O) e obesogênica com RTA (OR) no período de indução à obesidade e RTA.

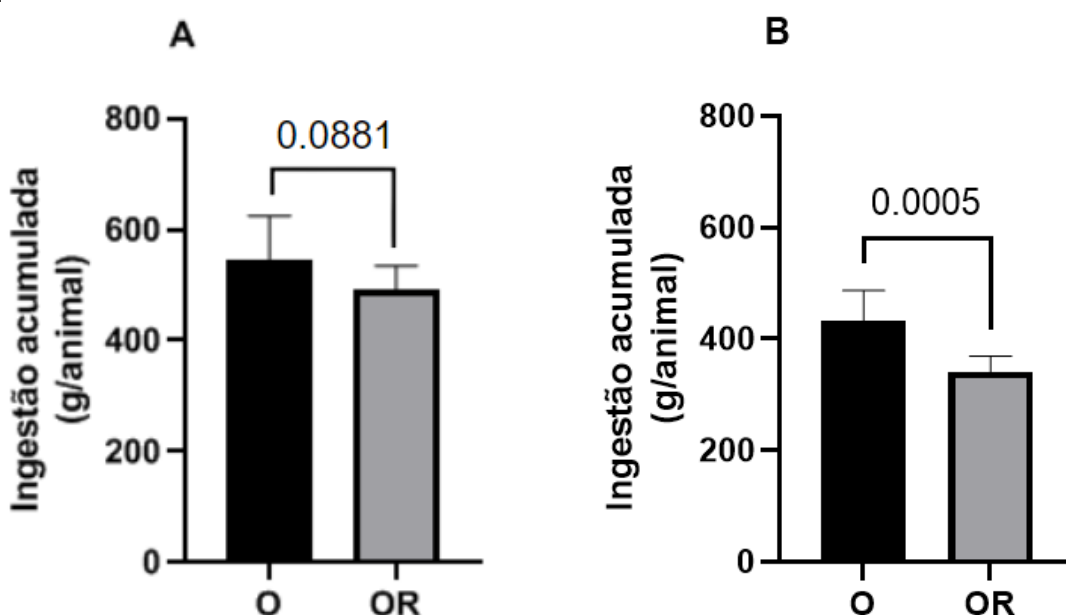


Ratas *Wistar* foram expostas à dieta ocidentalizada para indução à obesidade (grupo O e OR) durante 7 semanas e então o grupo OR foi submetido à RTA por um período de 4 semanas. O: n= 8, grupo ocidentalizado; OR: n= 9, grupo RTA. A: ingestão alimentar semanal média referente ao período de indução à obesidade, B: ingestão alimentar semanal média referente ao período de RTA. ANOVA de duas vias com post-hoc de Sidak ($p < 0,05$) (Fonte: o autor, 2023).

5.3 Ingestão alimentar acumulada média

A ingestão alimentar acumulada média foi indiferente entre os grupos no período de indução à obesidade ($O = 547,05 \pm 11,12$; $OR = 492,8 \pm 5,93$; $p = 0,0881$) e 26% menor para o grupo OR no período de restrição ($O = 432,5 \pm 54,73$; $OR = 341 \pm 28,09$; $p = 0,0005$).

Figura 3 – Ingestão alimentar acumulada média de ratas submetidas à dieta obesogênica (O) e obesogênica com RTA (OR) no período de indução à obesidade e RTA.

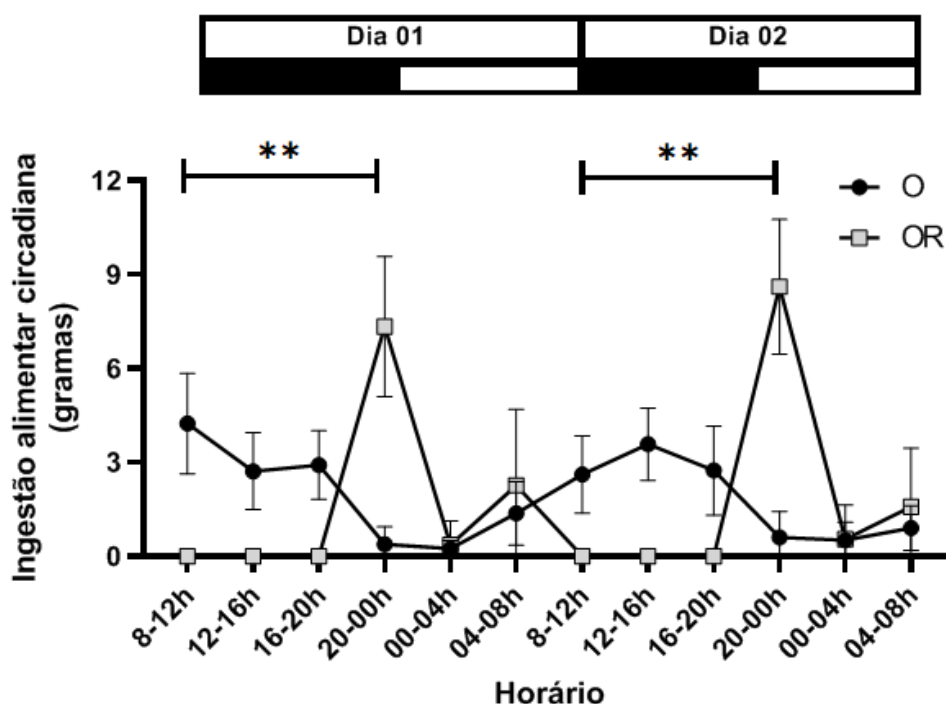


Ratas *Wistar* foram expostas à dieta ocidentalizada para indução à obesidade (grupo O e OR) durante 7 semanas e então o grupo OR foi submetido à RTA por um período de 4 semanas. O: n= 8, grupo ocidentalizado; OR: n= 9, grupo RTA. A: ingestão acumulada referente ao período de indução à obesidade, B: ingestão acumulada referente ao período de RTA. Teste t de Student não pareado ($p < 0,05$) (Fonte: o autor, 2023).

5.4 Ingestão alimentar circadiana

Na variável circadiana de alimentação observa-se que o grupo OR mostra uma hiperfagia temporária nas primeiras horas após a disponibilidade de ração, a partir de 20-00h do 1° (O= $0,39 \pm 0,56$; OR= $7,34 \pm 2,24$; $p=0,0001$) e 2° (O= $0,61 \pm 0,83$; OR= $8,61 \pm 2,15$; $p=0,0001$) dias.

Figura 4 – Ingestão alimentar circadiana de ratas submetidas à dieta obesogênica (O) e obesogênica com RTA (OR).



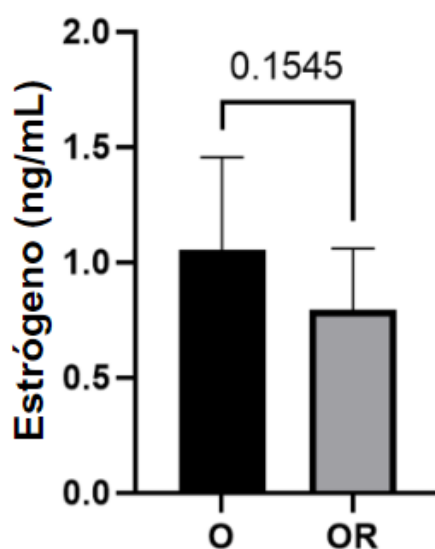
Ratas *Wistar* foram expostas à dieta ocidentalizada para indução à obesidade (grupo O e OR) durante 7 semanas e então o grupo OR foi submetido à RTA por um período de 4 semanas. O: n= 8, grupo ocidentalizado; OR: n= 9, grupo RTA. ANOVA de duas vias com post-hoc de Sidak ($p<0,05$) (Fonte: o autor, 2023).

5.5 Valores hormonais plasmáticos

5.5.1 Estrógeno

Estatisticamente, o valor do estrógeno não diferiu entre os grupos (O= $1,055 \pm 0,401$; OR= $0,792 \pm 0,267$; $p= 0,1545$).

Figura 5 – Valor plasmático de estrógeno de ratas submetidas a dieta obesogênica (O) e obesogênica com RTA (OR).

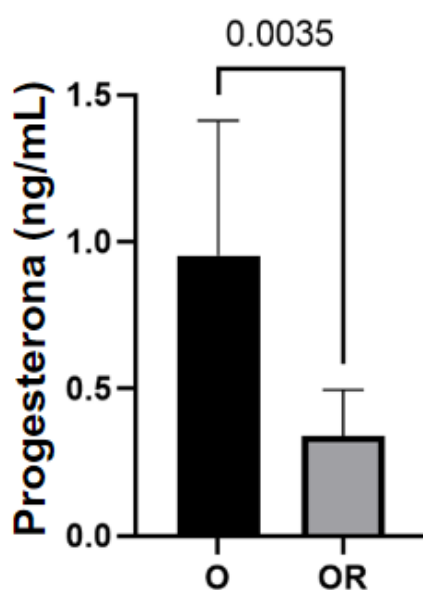


Ratas *Wistar* foram expostas à dieta ocidentalizada para indução à obesidade (grupo O e OR) durante 7 semanas e então o grupo OR foi submetido à RTA por um período de 4 semanas. O: n= 8, grupo ocidentalizado; OR: n= 9, grupo RTA. Teste t de Student não pareado ($p<0,05$) (Fonte: o autor, 2023).

5.5.2 Progesterona

Para os valores de progesterona observou-se redução no grupo OR em comparação ao grupo O não restrito (O= $0,952 \pm 0,459$; OR= $0,339 \pm 0,157$; $p=0,0035$).

Figura 6 – Valor plasmático de progesterona de ratas submetidas à dieta obesogênica (O) e obesogênica com RTA (OR).

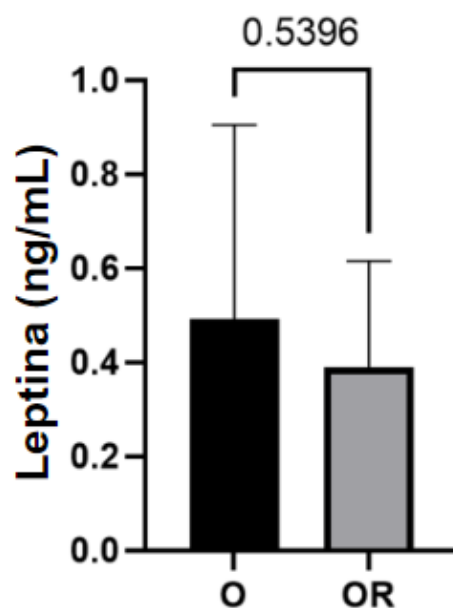


Ratas *Wistar* foram expostas à dieta ocidentalizada para indução à obesidade (grupo O e OR) durante 7 semanas e então o grupo OR foi submetido à RTA por um período de 4 semanas. O: n= 8, grupo ocidentalizado; OR: n= 9, grupo RTA. Teste t de Student não pareado ($p<0,05$) (Fonte: o autor, 2023).

5.5.3 Leptina

A leptina não indicou diferença entre os grupos (O= $0,491 \pm 0,413$; OR= $0,389 \pm 0,225$; $p= 0,5396$).

Figura 7 – Valor plasmático de leptina de ratas submetidas à dieta obesogênica (O) e obesogênica com RTA (OR).

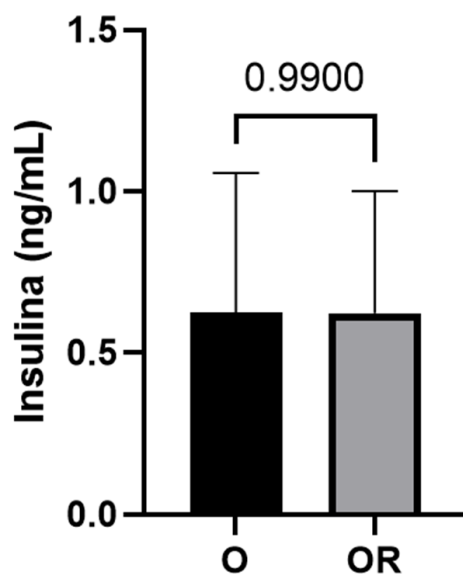


Ratas *Wistar* foram expostas à dieta ocidentalizada para indução à obesidade (grupo O e OR) durante 7 semanas e então o grupo OR foi submetido à RTA por um período de 4 semanas. O: n= 8, grupo ocidentalizado; OR: n= 9, grupo RTA. Teste t de Student não pareado ($p<0,05$) (Fonte: o autor, 2023).

5.5.4 Insulina

A insulina também não mostrou diferença entre os grupos ($O = 0,6256 \pm 0,4314$; $OR = 0,6230 \pm 0,3772$; $p = 0,9900$).

Figura 8 – Valor plasmático de insulina de ratas submetidas à dieta obesogênica (O) e obesogênica com RTA (OR).



Ratas *Wistar* foram expostas à dieta ocidentalizada para indução à obesidade (grupo O e OR) durante 7 semanas e então o grupo OR foi submetido à RTA por um período de 4 semanas. O: $n = 8$, grupo ocidentalizado; OR: $n = 9$, grupo RTA. Teste t de Student não pareado ($p < 0,05$) (Fonte: o autor, 2023).

6 DISCUSSÃO

A análise murinométrica não mostrou diferença no peso corporal ao longo do período experimental, mesmo com ingestão semanal e acumulada menores para o grupo OR. Um estudo feito por Goede *et al.* (2022), com ratos *Wistar* machos e análise de RTA de 10h por 4 semanas, mostrou que o grupo com RTA na fase clara, ao ser comparado com o grupo de RTA na fase escura e *ad libitum*, mostrou peso corporal menor. A dieta utilizada foi padrão e o consumo diário não diferiu entre os grupos.

Dessa maneira, pode-se especular que a ausência de efeito no peso do grupo OR tenha sido dada porque o uso da dieta ocidentalizada no ciclo inativo retardou as alterações metabólicas que contribuem para a perda de peso, implicando em maior tempo para ponderar resposta positiva. Aouichat *et al* (2020), ao analisar RTA de 8h do ciclo escuro em ratos *Wistar* albinos que estavam consumindo dieta de cafeteria, semelhante a ocidentalizada, ou controle por 16 semanas, encontrou melhora da dislipidemia, escurecimento de tecido adiposo branco e menor peso corporal. Nesse contexto, o uso da RTA por um período maior não só evidenciou melhora metabólica, como menor peso. Sendo assim, se o objetivo é redução de peso corporal, uma estratégia parece ser um período mais prolongado de RTA, a fim de alcançar melhora no peso corporal, posterior ou concomitante aos ajustes metabólicos.

A ingestão alimentar semanal média mostrou maior consumo para o grupo ocidentalizado, tanto nas semanas de indução à obesidade, quanto nas semanas de RTA. Semelhante a isso se deu a ingestão alimentar acumulada média, com maior consumo para o grupo ocidentalizado nos dois períodos também. Este protocolo de jejum não é caracterizado por ingestão compensatória durante a menor janela alimentar ativa dos roedores, o que pode ser justificado pelo potencial da dieta palatável em reduzir respostas comportamentais e neuroendócrinas ao estresse (Egan *et al.*, 2019). Isso significa que a restrição diminuiu significativamente o total ingerido por dia, o que pode ser visto a partir das primeiras semanas de aplicação do protocolo de jejum.

O consumo alimentar circadiano apresentou, durante os 2 dias de avaliação, maiores picos de consumo alimentar para o grupo de restrição, no início da janela alimentar, de 20h. O pico de ingestão no início do ciclo claro, ocorrido em ambos os

dias, indica um comportamento alimentar estereotipado, isto é, uma ação previsível de acontecer no período de jejum, caracterizando uma hiperfagia temporária. Os picos de consumo alimentar durante a avaliação da ingestão circadiana, corrobora com o protocolo de restrição alimentar durante o ciclo inativo (Adafer *et al.*, 2020). O aumento da ingestão alimentar circadiana, seja no início ou no fim da RTA, denota ritmicidade, ou seja, essa ingestão tem influência direta dos limites da janela alimentar.

De acordo com os resultados, foi evidente e repetitivo que o grupo OR mantém uma ritmicidade de alimentação com picos elevados de ingestão nas primeiras 4h após disponibilizada a alimentação. Isto é comum quando períodos de jejum são intercalados com horários de disponibilidade de alimento. Um comportamento semelhante foi visto no estudo de Goede *et al.* (2020), em qual ratos machos *Wistar* com disponibilidade de alimento por 12h do ciclo claro tiveram pico de ingestão alimentar no início da janela alimentar.

Dos hormônios sexuais, a progesterona destacou-se, com redução de seus níveis no grupo OR. Níveis equilibrados de progesterona sugerem boa saúde feminina, através dos ciclos de menstruação, gravidez e lactação e condição clínica frente às doenças do público (Nagy *et al.*, 2021). Como apresentam Broughton e Moley (2017), a obesidade pode levar à infertilidade, e entre os parâmetros para risco desse quadro está a diminuição excessiva do valor sérico de progesterona. Como não temos um grupo sem obesidade, especula-se que, caso a indução à obesidade tenha gerado redução da progesterona, o protocolo de RTA utilizado pode acentuar a diminuição dos níveis desse hormônio. Todavia, esses níveis dependem de outros fatores, como a fase do ciclo estral em que as ratas se encontram. No início do proestro, por exemplo, os valores normais para progesterona são menores que 5ng/mL (Callegari, 2008). Logo, a RTA pode ter modulado a baixa da progesterona, porém é necessário investigar o ciclo estral das ratas.

O estrógeno, por sua vez, não expressou diferença entre O e OR, mas indica uma diminuição no valor do hormônio para o grupo de restrição. Segundo Anselmo-Franci e Szawka (2005), o estradiol possui comportamento semelhante ao da progesterona, com pico de concentração plasmática um pouco mais antecipado. A atuação conjunta dos hormônios femininos elucida a diminuição encontrada no valor de estrógeno. Nessa perspectiva, também não é possível atribuir efeito

negativo ao resultado de estrógeno encontrado para os grupos, pois a diminuição em comum entre ele e progesterona podem ser derivadas do estágio dentro do ciclo reprodutivo.

A progesterona possui relação com o consumo alimentar, visto que seu nível elevado estimula a compulsão alimentar, podendo causar, manter ou agravar obesidade (Leeners *et al.*, 2017). A sua menor expressão no presente estudo, entre outras coisas, justifica a redução da ingestão alimentar do grupo OR. Ademais, de acordo com Fry (2002) e Walf (2004), níveis mais baixos de progesterona estão associados a um estado mais depressivo, o que, para o grupo OR, pode ter contribuído para um consumo alimentar menor também. Contudo, esses fatores não foram suficientes para esse grupo ter peso menor que o do grupo O. Outros estão subjacentes, a exemplo das alterações metabólicas causadas pela dieta e horário de alimentação.

A leptina é alterada na aquisição e manutenção da obesidade, com aumento considerável acompanhado de resistência aos seus efeitos anoréxicos. Este hormônio, inclusive, justifica a desregulação no metabolismo da glicose, visto que o ganho ou perda da ação da leptina hepática em camundongos, por exemplo, tem um impacto profundo na atividade da fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) (Zhang *et al.*, 2015). No entanto, não houve diferença de leptina entre os grupos, já que o peso não foi alterado pelo RTA. A correlação entre o peso corporal e os níveis de leptina podem ser vistas na investigação de Boucsein, Rizwan, e Tups (2019), onde camundongos machos submetidos à dieta hiperlipídica e RTA de 6h em aproximadamente 4 semanas apresentaram redução de peso e de leptina. Somado a isso, provavelmente o funcionamento metabólico não foi afetado de forma significativa pelo RTA.

Além da importância fisiopatológica da leptina, a insulina é outro hormônio que deve ser considerado e avaliado nas ratas induzidas à obesidade. Esse quadro clínico cursa com variação diária na tolerância à glicose e na sensibilidade à insulina. A insulina plasmática dos roedores com RTA na fase clara não diminuiu em função do jejum, isto é, não apresentou melhora. Resultado semelhante foi encontrado em um estudo com ratos *Wistar* machos submetidos a um protocolo de RTA de 10h nos ciclos claro e escuro. Nele, os roedores que passaram por restrição no ciclo claro ou inativo não tiveram melhora na tolerância à glicose e níveis de

insulina, ocorrência justificada pela promoção de interrupção circadiana (Goede *et al.*, 2019). O mesmo comportamento foi identificado por Azemi *et al.* (2022), ao comparar ratos machos *Sprague-Dawley* submetidos à dieta hiperlipídica com e sem RTA de 6 semanas. A insulina não foi significativamente reduzida, mesmo com a indicação de um valor menor que o grupo sem restrição, porém a resistência à insulina diminuiu bastante. Logo, sugere-se avaliar esse hormônio em um desenho experimental com RTA mais longa, haja vista a possibilidade de esclarecer se a insulina é afetada positivamente com RTA no ciclo inativo ou não.

7 CONCLUSÃO

O conjunto de resultados obtidos no uso de um protocolo de RTA com 12h e oferta de alimento na fase inativa (período claro) de ratas submetidas à dieta obesogênica não foi capaz de reduzir o peso corporal, mesmo com os animais comendo menos durante o período de RTA. Além disso, a redução dos valores de progesterona plasmática pode ser um indício de alteração do ciclo hormonal em função de um tipo de jejum intermitente. Isto reforça a importância do alinhamento circadiano com a alimentação, ou seja, priorizar o tempo ativo para ingestão alimentar, a fim de contribuir para o funcionamento saudável do organismo.

REFERÊNCIAS

- Adafer, R. *et al.* Food timing, circadian rhythm and chrononutrition: a systematic review of time-restricted eating's effects on human health. **Nutrients**. v.12, n.12, p.3770. 2020.
- Alves, E. M. S. *et al.* Time-restricted feeding in dark phase of circadian cycle and/or westernized diet cause mixed hyperlipidemia in rats. **Nutrición Hospitalaria**. v. 38, n. 2, p. 281-289. 2021.
- Anglès-Pujolrás, M., *et al.* Motor activity rhythms of forced desynchronized rats subjected to restricted feeding. **Physiology&Behavior**. v.88, n.1, p.30-38. 2006.
- Anselmo-Franci, J. A., Szawka, R. E. Controle neuroendócrino da reprodução feminina. In: Antunes-Rodrigues, J., Moreira, A. C.; Elias, L. I. K., Castro, M. (Eds.). **Neuroendocrinologia básica e aplicada**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2005. Cap. 22: 318-40.
- Anton, S. D.; Lee, S. A.; Donahoo, W. T., *et al.* Os efeitos da restrição de tempo de alimentação em idosos com excesso de peso: um estudo piloto. **Nutrients**. v.11, n.7, p.1500. 2019.
- Antoni, R. R. T.; Robertson, M. D.; Johnston, J. D. Um estudo piloto de viabilidade explorando os efeitos de uma intervenção alimentar moderada com restrição de tempo na ingestão de energia, adiposidade e fisiologia metabólica em seres humanos de vida livre. **Revista de Ciência Nutricional**. 2018.
- Aouichat, S.; Chayah, M.; Bouguerra-Aouichat, S.; Agil, A. Time-restricted feeding improves body weight gain, lipid profiles, and atherogenic indices in cafeteria-diet-fed rats: role of browning of inguinal white adipose tissue. **Nutrients**. v.12, n.8. p.2185. 2020.
- Azemi, A. K., Siti-Sarah, A. R., Mokhtar, S. S. *et al.* Time-restricted feeding improved vascular endothelial function in a high-fat diet-induced obesity rat model. **Veterinary Sciences**. v.9, n.5, p.217. 2022.
- Balcombe, J. *et al.* Laboratory routines cause animal stress. **American Association for Laboratory Animal Science**. 2014.
- Bilibio, B. *et al.* Effects of alternate-day fasting and time-restricted feeding in obese middle-aged female rats. **Nutrition**. v.116, n.1. 2023.
- Blagonravov, M. L.; Barnard, N. D.; Sandusky, C. 24-hour profile of blood pressure, heart rate, excretion of electrolytes, and locomotor activity in wistar-kyoto and SHR rats under conditions of free-run rhythm. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**. v. 166, n. 2, p. 192–196. 2018.

Bluher, M. Inflamação do tecido adiposo: causa ou consequência da resistência à insulina relacionada à obesidade? **Clinical Science**. v.130, n.18, p.1603-1614. 2016.

Boucsein, A., Rizwan, M.Z., Tups, A. Hypothalamic leptin sensitivity and health benefits of time-restricted feeding are dependent on the time of day in male mice. **The FASEB Journal**. v.33, n.11, p.12175-12187. 2019.

Broughton, D. E.; Moley, K. H. Obesity and female infertility: potential mediators of obesity's impact. **Fertility and Sterility**. v.107, n.4, p.840-847. 2017.

Caballero, B. Humans against obesity: who will win? **Advances in Nutrition**. v.10, n.1, p.4-9. 2019.

Callegari, F. V. R. **Perfil da secreção de progesterona em ratas no proestro: uma nova proposta para o controle do pico pré-ovulatório de LH**. 2008. 87f. Tese - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2008.

Chaix, A., Zarrinpar, A., Panda, S. The circadian coordination of cell biology. **The Journal of Cell Biology**. v.215, n.1, p.15–25. 2016.

Chambers, L., Seidler, K., Barrow, M. Circadian misalignment in obesity: The role for time-restricted feeding. **Clinical Nutrition ESPEN**. v.57, n.1, p.430-447. 2023.

Che, T., *et al.* A alimentação com restrição de tempo melhora a glicose no sangue e a sensibilidade à insulina em pacientes com sobrepeso e diabetes tipo 2: um ensaio clínico randomizado. **Nutrition and Metabolism**. v.18, n.1. 2021.

Cienfuegos, S., *et al.* Efeitos da alimentação com restrição de tempo de 4 e 6 horas sobre o peso e a saúde cardiometabólica: um ensaio clínico randomizado em adultos com obesidade. **Metabolismo Celular**. v.32, n.3, p.366-378. 2020.

Dibner, C., Schibler, U., Albrecht, U. The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. **Physiological Reviews**. v.72, n.1, p.517-49. 2010.

Duncan, M., Smith, J., Narbaiza, J. *et al.* Restricting feeding to the active phase in middle-aged mice attenuates adverse metabolic effects of a high-fat diet. **Physiology & Behavior**. v. 167, n.1, p. 1–9. 2016.

Egan, A. E., Seemiller, L. R., Packard, A. E. B. *et al.* Palatable food reduces anxiety-like behaviors and HPA axis responses to stress in female rats in an estrous-cycle specific manner. **Hormones and Behavior**. 2019.

Fanti, M. *et al.* Time-restricted eating, intermittent fasting, and fasting-mimicking diets in weight loss. **Current Obesity Reports**. v.10, n.2, p. 70-80. 2021.

Ferro Cavalcante, T.C., *et al.* Early exposure of dams to a westernized diet has long-term consequences on food intake and physiometabolic homeostasis of the rat

off spring. **International Journal of Food Science Nutrition**. v.65, n.8, p. 989-993. 2014.

Frye, C. A, Walf, A. A. Changes in progesterone metabolites in the hippocampus can modulate open field and forced swim test behavior of proestrous rats. **Hormones and Behavior**. v.41, n.3, p. 306-315. 2002.

Gabel, K. *et al.* Effects of 8-hour time restricted feeding on body weight and metabolic disease risk factors in obese adults: a pilot study. **Nutrition and Healthy Aging**. v.4, n.4, p.345–353. 2018.

Goede, P. *et al.* Time-restricted feeding improves glucose tolerance in rats, but only when in line with the circadian timing system. **Frontiers in Endocrinology**. v.21, n.10, p.554. 2019.

Goede, P.; Hellings, T. P.; Coopmans, T. V.; Ritsema, W. I. G. R.; Kalsbeek. A. After-effects of time-restricted feeding on whole-body metabolism and gene expression in four different peripheral tissues. **Obesity**. v.1, n.1. 2020.

Goede, P., Wüst, R. C. I., Schomakers, B. V., *et al.* Time-restricted feeding during the inactive phase abolishes the daily rhythm in mitochondrial respiration in rat skeletal muscle. **The FASEB Journal**. v.36, n.2. 2022.

Han Y., *et al.* Time-restricted feeding improves metabolic and endocrine profiles in mice with polycystic ovary syndrome. **Frontiers in Endocrinology**. 2022.

Haupt, S. *et al.* Eat, Train, sleep-retreat? Hormonal interactions of intermittent fasting, exercise and circadian rhythm. **Biomolecules**. v.11, n.4. 2021.

Hutchinson, A. T., Regmi, P., Manoogian, E. N. C. *et al.* A alimentação com restrição de tempo melhora a tolerância à glicose em homens com risco de diabetes tipo 2: um estudo cruzado randomizado. **Obesidade**. v.27, n.5, p.724-732. 2019.

Jamshed, H. *et al.* Early time-restricted feeding improves 24-hour glucose levels and affects markers of the circadian clock, aging, and autophagy in humans. **Nutrients**. v.11, n.6, p.1234. 2019.

Kalam, F. *et al.* Efeito da alimentação com restrição de tempo nos níveis de hormônios sexuais em mulheres na pré e pós-menopausa. **Obesidade**. v.31, n.1, p.57-62. 2023.

Kim, B. H. *et al.* Effects of intermittent fasting on the circulating levels and circadian rhythms of hormones. **Endocrinology and Metabolism**. v.36, n.4, p.745-756. 2021.

Leeners, B. *et al.* Ovarian hormones and obesity. **Human Reproduction Update**. v.23, n.3, p.300-321. 2017.

Lorenzo, A. *et al.* Why primary obesity is a disease? **Journal of Translational Medicine**. v.17, n.1, p.169. 2019.

Melkani, G. C., Panda, S. Time-restricted feeding for prevention and treatment of cardiometabolic disorders. **Journal of Physiology**, v. 595, n. 12, p. 3691–3700. 2017.

Moon, S. *et al.* Beneficial effects of time-restricted eating on metabolic diseases: a systemic review and meta-analysis. **Nutrients**. v.12, n.5, p.1267. 2020.

Nagy, B. *et al.* Key to life: physiological role and clinical implications of progesterone. **International Journal of Molecular Sciences**. v.22, n.20, p.11039. 2021.

Noce, A., Romani, A., Bernini, R. Dietary intake and chronic disease prevention. **Nutrients**. v.13, n.4., p.1358. 2021.

Novelli, E. L. B. *et al.* Anthropometric parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals**. v.41, p.111-119. 2007.

Park, S. *et al.* Intermittent fasting reduces body fat but exacerbates hepatic insulin resistance in young rats regardless of high protein and fat diets. **The Journal of Nutritional Biochemistry**. v.40, n.1, p.14–22. 2017.

Ravussin, E. *et al.* Early time-restricted feeding reduces appetite and increases fat oxidation but does not affect energy expenditure in humans. **Obesity**. v.75, n.8, p.1244-1254. 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, n. 10, p. 1–23. 2019.

Sadowska, J., Dudzińska, W., Dziaduch, I. The effect of alternating high-sucrose and sucrose free-diets, and intermittent one-day fasting on the estrous cycle and sex hormones in female rats. **Nutrients**. v.14, n.20, p.4320. 2022.

Schueler, J. *et al.* Group differences in binge eating, impulsivity, and intuitive and mindful eating among intermittent fasters and non-fasters. **Appetite**. v.182, n.1. 2023.

Semlitsch, T. *et al.* Management of overweight and obesity in primary care - A systematic overview of international evidence-based guidelines. **Obesity Reviews**. 2019.

Sutton, E. F. *et al.* A alimentação precoce com restrição de tempo melhora a sensibilidade à insulina, a pressão arterial e o estresse oxidativo, mesmo sem perda de peso em homens com pré-diabetes. **Metabolismo celular**. v.27, n.6, p.1212-1221. 2018.

Wang, W. *et al.* Time-restricted feeding restored insulin-growth hormone balance and improved substrate and energy metabolism in MC4RKO obese mice. **Neuroendocrinology**. 2021.

Wharton, S. *et al.* Obesity in adults: a clinical practice guideline. **Canadian Medical Association Journal**. v.192, n.31, p.875. 2020.

Wilkinson, M. J. *et al.* Ten-hour time-restricted eating reduces weight, blood pressure, and atherogenic lipids in patients with metabolic syndrome. **Cell Metabolism**. v.31, n.1, p.92-104. 2020.

World Obesity Atlas. **World Obesity Federation**. v.1, n.1, p.1-232. 2023.

Zhang, L., Song, H., Ge, Y *et al.* Temporal relationship between diet-induced steatosis and onset of insulin/leptin resistance in male Wistar rats. **Public Library of Science**. v.10, n.2. 2015.

ANEXO

Anexo A — Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE



Universidade Federal de Pernambuco
 Centro de Biociências
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
 50670-420 / Recife - PE - Brasil
 Fone: 2126 5842
 ceua@ufpe.br

Recife, 23 de maio de 2022

Ofício nº 29/22

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: Prof.ª Elizabeth do Nascimento
Departamento de Nutrição/ CCS
Processo nº 0017/2022

Certificamos que a proposta intitulada **“Restrição temporal do alimento e/ou uso do extrato hidroalcoólico da parkinsonia aculeata em ratas obesas: consequências metabólicas e comportamentais”**, Registrado com o nº **0017/2022** sob a responsabilidade de **Prof. Elizabeth do Nascimento** o 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 26/04/2022

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	08/08/2022 a 08/08/2023
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico
Nº de animais	50
Peso/Idade	50±5g / 21 dias
Sexo	Fêmea
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Nutrição da UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Departamento de Nutrição da UFPE