

EFEITOS DO ESPAÇO HABITACIONAL SOBRE AS CAPACIDADES AERÓBIA E ANAERÓBIA E ATIVIDADE FÍSICA ESPONTÂNEA DE CAMUNDONGOS

Palavras-Chave: alojamento, velocidade crítica, capacidade de corrida anaeróbia

LUANA G SENRA, PEDRO PM SCARIOT, FÚLVIA B MANCHADO-GOBATTO, CLAUDIO A GOBATTO.

Laboratório de Fisiologia Aplicada ao Esporte -LAFAE,
Faculdade de Ciências Aplicadas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

INTRODUÇÃO:

A Atividade Física Espontânea (AFE), está relacionada às atividades da vida diária, não se qualificando como exercício voluntário (GARLAND et al., 2011). As atividades físicas incluídas no âmbito da AFE tais como manutenção de postura, locomoção deambulatória e inquietação muscular geram relevante atividade da musculatura esquelética, o que torna a AFE um elemento de forte influência sobre o gasto energético diário (GARLAND et al., 2011). Sendo assim, a maior AFE contribui para uma elevada capacidade de metabolizar substratos energéticos, com implicações diretas na deposição de gordura, composição corporal, parâmetros de aptidão física e, de certa maneira, o status metabólico (GAVINI et al., 2014; NOVAK et al., 2010; PEREZ-LEIGHTON et al., 2013; TESKE et al., 2012). Em apoio a esse entendimento, existe considerável volume de estudos apontando que roedores com maior AFE possuem menor gordura corporal (TESKE et al., 2012), maior resistência ao ganho de adiposidade, mesmo sob dietas calóricas (PEREZ-LEIGHTON et al., 2013), e ainda maior aptidão aeróbia (NOVAK et al., 2010).

Ainda que a AFE seja intrinsecamente controlada (via neuropeptídeos hipotalâmicos) (TESKE et al., 2008), temos evidências sugerindo que a AFE pode ser aumentada pela modificação do ambiente. Neste sentido, roedores podem ser usados como um modelo útil na elucidação da influência da AFE nas capacidades aeróbias e anaeróbias. Baseados em experimentos com gaiolas de diferentes tamanhos, foi observado que gaiolas de pequenas dimensões (GPD) limitam os roedores quanto aos seus comportamentos naturais e induzem um estilo de vida menos ativo e obesogênico (SCARIOT et al., 2015). Mais recentemente, construímos uma gaiola de grande dimensão (GGD), capaz de quantificar a AFE (SCARIOT et al., 2019). Com tal sistema, foi possível verificar que o espaço habitacional é um modulador da AFE haja vista que gaiolas amplas propiciam maior liberdade de locomoção, podendo levar os roedores a exibirem aumento da AFE, com conseqüente melhoria da aptidão física.

No que tange especificamente às capacidades aeróbias e anaeróbias, é válido mencionar que seu aprimoramento é muito importante não somente para a performance esportiva, mas também para amenizar os prejuízos do envelhecimento sobre o metabolismo, e à saúde. Embora se conheçam os vários prejuízos do declínio dessas capacidades, as razões desse declínio ainda não são totalmente conhecidas. É evidente que o estilo de vida exerce grande impacto na deterioração dessas capacidades. Contudo, a maioria dos estudos que investigam o estilo de vida se limitam às práticas de exercício voluntário (planejado, intencional), enquanto pouco é explorado acerca do envolvimento da AFE.

Nossa hipótese é que a AFE exerce grande impacto sobre as capacidades aeróbias e anaeróbias de camundongos, e que maior AFE nos roedores mantidos em GGD deverá contribuir para a melhoria da velocidade crítica (V_{crit}), considerada como capacidade aeróbia. Com isso, o presente estudo tem como objetivo examinar a AFE, V_{crit} e Capacidade de Corrida Anaeróbia (CCA) em camundongos C57BL/6J após 4 e 8 semanas vivendo em dois diferentes espaços habitacionais: GPD e GGD.

METODOLOGIA:

Animais e desenho experimental:

Para a execução desse projeto, foram utilizados 20 camundongos isogênicos C57BL/6J, provenientes do Centro Multidisciplinar de investigação Biológica (CEMIB). O experimento foi conduzido no Biotério de Ciências do Esporte da Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA/UNICAMP), Campus de Limeira - SP. As condições de luminosidade do biotério foram respeitadas com a adoção de um ciclo claro-escuro de 12 horas (claro: 6-18h, escuro: 18-6h). Os animais foram mantidos em um ambiente climatizado, sendo a temperatura mantida entre $22 \pm 1^\circ\text{C}$. Em todos os grupos, os animais foram alimentados com ração comercial (Nuvilab®, CR1, Nuvital) e receberam água ad libitum. O experimento foi realizado de acordo com a legislação Brasileira corrente e o estudo presente recebeu aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais. Os camundongos foram mantidos sob as intervenções experimentais durante oito semanas. As capacidades aeróbia e anaeróbia dos animais foram obtidas pelo protocolo de velocidade crítica no meio (4 semanas) e ao término do experimento (8 semanas). A AFE foi quantificada nessas mesmas semanas experimentais.

Condições de alojamento:

Os animais foram divididos conforme as condições de alojamento, sendo separados em dois grupos: 1) GPD (n=10), mantidos em gaiola de pequena dimensão, de 40,0 centímetros de comprimento, 33,0 centímetros de largura e 16,0 centímetros de altura (1.320 cm^2); 2) GGD (n=10), mantidos em uma gaiola de grande dimensão, de 80,0 centímetros de comprimento, 60,0 cm de largura e 33,3 centímetros de altura (4.800 cm^2).

Determinação da AFE:

A AFE foi avaliada gravimetricamente em GPD e GGD. Todos os movimentos produzidos pelos camundongos, gerando forças verticais na base das gaiolas, sensibilizaram células de carga (2 kg, PWZL®, MK, BR), gerando sinais que foram amplificados (SC-2345-SCC®, NI, EUA) e capturados por um sistema de aquisição (NI-USB 6008®, NI, EUA) com frequência de amostragem de 200 Hz. Nos dois tipos de alojamento, três células de carga idênticas foram fixadas entre duas plataformas de ferro em um layout triangular. O princípio gravimétrico pode ser responsável pelos principais movimentos associados ao deslocamento, e também por movimentos mais sensíveis, como erguer-se, alisar e mexer-se. Além disso, as atividades podem ser medidas por este aparelho sem que os animais sejam removidos de sua gaiola. Durante os registros da AFE, os camundongos foram alojados coletivamente para preservar a habitação social, visando não alterar os parâmetros metabólicos e comportamentais (GOLDSMITH et al., 1978; PARKER e MORINAN, 1986) A AFE foi calculado usando Matlab® software

seguindo função matemática previamente descrita (POLISEL et al., 2021; SCARIOT et al., 2019). A AFE foi calculada por 19 horas contínuas a cada dia (12 horas de período escuro a 7 horas de período claro).

Velocidade Crítica e Capacidade de Corrida Anaeróbia:

O procedimento adotado para a determinação das capacidades aeróbia e anaeróbia atendeu os pressupostos do modelo de velocidade crítica, cuja proposta para humanos foi sugerida por Monod e Scherrer (1965), adaptada para ratos Wistar por Manchado-Gobatto et al. (2011) e para camundongos por Billat et al. (2005). Para tal, os animais C57BL/6J foram inicialmente submetidos a uma adaptação à corrida em esteira rolante por cinco dias. Posteriormente, realizaram quatro sessões de exercício separadas por intervalo de 24 a 48 horas, sendo em cada um desses dias submetidos à corrida contínua até a exaustão. As intensidades foram individualmente selecionadas para que o tempo limite de exercício (tlim) ocorresse na faixa de duração do esforço sugerida pelo modelo (1 a 15 minutos). A partir de uma relação linear entre distância vs. tempo limite foi possível determinar o coeficiente angular e o intercepto y, os quais correspondem, respectivamente, à velocidade crítica (Vcrit, capacidade aeróbia) e a capacidade de corrida anaeróbia (CCA, capacidade anaeróbia).

Análise estatística:

Os pressupostos de normalidade e homogeneidade foram testados por Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Foi utilizado a análise de variância (ANOVA) para determinar os efeitos do espaço habitacional (GPD vs GGD) e efeito do tempo (4 vs 8 semanas) sobre a AFE, Vcrit e CCA. O teste post-hoc de Fisher LSD foi usado para indicar diferenças entre os grupos. Em todos os casos, o nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os dados de Vcrit e CCA estão ilustrados na tabela 1. ANOVA identificou um efeito da gaiola mostrando que animais vivendo em GGD exibem maior Vcrit quando comparados aos animais mantidos em GPD. A análise de post-hoc identificou que a Vcrit (na 8 semana) é significativamente maior nos animais vivendo em GGD em comparação com GPD. Não foi encontrada nenhum outro efeito estatístico para a Vcrit e CCA.

Tabela 1: Velocidade crítica (Vcrit) e capacidade de corrida anaeróbia (CCA) de roedores mantidos em gaiolas de pequenas dimensões (GPD) e gaiolas de grandes dimensões (GGD) na quarta e oitava semana.

	Gaiola de pequena dimensão		Gaiola de grande dimensão		ANOVA		
	4 semana	8 semana	4 semana	8 semana	Tempo	Gaiola	Interação
Vcrit (m.min⁻¹)	19.1±0.9	18±0.8	20.1±0.6	20.4±0.8#	F=0.28, P=0.59	F=5.26, P=0.02	F=0.88, P=0.35
ARC (m)	6.9±0.9	8.4±0.9	5.9±1.2	8.4±1.6	F=2.82, P=0.10	F=0.16, P=0.68	F=0.18, P=0.67

diferente da gaiola de pequena dimensão no mesmo período

Como ilustrado na tabela 2, ANOVA identificou um efeito da gaiola mostrando que animais vivendo em GGD exibem maior AFE quando comparados aos animais mantidos em GPD. Análise de post-hoc também confirmou que os camundongos alojados em GGD tiveram maior AFE tanto na 4ª semana como na 8ª semana. Além disso, em GGD, ao longo das 8 semanas, apresentaram aumento da AFE quando comparados à 4ª semana no mesmo alojamento (AFE diária e AFE no ciclo escuro).

Tabela 2: Atividade física espontânea de roedores mantidos em gaiolas de pequenas dimensões (GPD) e gaiolas de grandes dimensões (GGD) na quarta e oitava semana.

	Gaiola de pequena dimensão		Gaiola de grande dimensão		ANOVA		
	4 semana	8 semana	4 semana	8 semana	Tempo	Gaiola	Interação
AFE diária	240.2±13.8	274.6±6.6	426.9±21.1#	357.5±13.2#*	F=1.43, P=0.24	F=85.14, P<0.05	F=12.63, P<0.05
AFE (ciclo escuro)	326.8±23.0	372.4±11.6	601.5±30.4#	478.7±22.3#*	F=2.86, P=0.10	F=69.52, P<0.05	F=13.58, P<0.05
AFE (ciclo claro)	91.6±12.1	107.1±11.7	127.5±9.3#	149.8±12.9#	F=2.66, P=0.11	F=11.54, P<0.05	F=0.09, P=0.77

diferente de GPD no mesmo período, * diferente da 4 semana dentro do mesmo grupo.

Com base nos dados apresentados, o estudo confirmou que os camundongos que viveram 8 semanas em GGD apresentaram aumento da AFE quando comparados com os que viveram em GPD, mostrando que é possível aumentar a AFE quando alterações no ambiente são feitas. Sabemos que na sociedade atual, as pessoas ficam muito tempo sentadas no trabalho, ocasionando diminuição da AFE que está intimamente associada ao sedentarismo, com consequente ganho de gordura, tornando-as predispostas a desenvolver obesidade e reduzindo sua expectativa de vida (MCCRADY; LEVINE, 2009). Sendo assim, os resultados encontrados nesse estudo corroboram com aqueles envolvendo humanos, que mostram que adequações ambientais (no âmbito doméstico ou laboral) podem favorecer o aumento da AFE, que pode conceder benefícios consistentes à saúde e a vida mais longa (BEN-NER, et al., 2014). Posto isso, é preciso encontrar estratégias que possam ser aplicadas em ambientes obesogênicos para aumentar a AFE e prevenir a obesidade e doenças metabólicas (SCARIOT et al., 2019).

Já foi demonstrado em estudos anteriores melhora em diferentes indicadores de aptidão física (e.g. ganhos de massa corporal e adiposa, enzimas musculares e estoque de glicogênio) em roedores de laboratório alojados em um maior espaço habitacional com maiores oportunidades de se moverem livremente (SPANGENBERG et al., 2005, SCARIOT et al., 2019). Sendo assim, nosso estudo sugere que a GGD pode melhorar a saúde de camundongos, já que a baixa AFE e consequentemente menor capacidade aeróbia estão ligadas a várias doenças metabólicas (GAVINI et al., 2014).

Nosso estudo utilizou a estratégia de aumentar o tamanho da gaiola que os roedores ficaram alojados e foi observado um aumento da AFE nos animais que ficaram em GGD quando comparado

com GPD na 4ª e na 8ª semana e esse aumento da AFE gerou também maior Vcrit, representando um maior desempenho da capacidade aeróbia.

CONCLUSÕES:

Em conclusão, mostramos que o espaço habitacional é um modulador da AFE, já que animais vivendo em GGD apresentaram maior AFE do que os alojados em GPD, que implicou em impactos sobre as adaptações aeróbias, exibindo maior Vcrit na 8ª semana quando comparados com animais mantidos em GPD.

BIBLIOGRAFIA

- BEN-NER, A., HAMANN, D.J., KOEPP, G., MANOHAR, C.U., LEVINE, J. Treadmill workstations: the effects of walking while working on physical activity and work performance. **PLoS One**, v.9(2), p.e88620, 2014.
- BILLAT, V.L., MOUISEL, E., ROBLOT, N., MELKI, J. Inter- and intrastrain variation in mouse critical running speed. **Journal of Applied Physiology**, v. 98, n. 4, p. 1258–1263, 2005.
- GARLAND, T., JR., SCHUTZ, H., CHAPPELL, M.A., KEENEY, B.K., MEEK, T.H., COPES, L.E., ACOSTA, W., DRENOWATZ, C., MACIEL, R.C., DIJK, G., KOTZ, C.M., EISENMANN, J.C. The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: human and rodent perspectives. **J Exp Biol**, v.14(Pt 2), p.206-229, 2011
- GAVINI, C.K., MUKHERJEE, S., SHUKLA, C., BRITTON, S.L., KOCH, L.G., SHI, H., NOVAK, C.M. Leanness and heightened nonresting energy expenditure: role of skeletal muscle activity thermogenesis. **Am. J. Physiol Endocrinol Metab**, v.306(6), p. E635-E647, 2014.
- GOLDSMITH, J.F., BRAIN, P.F., BENTON, D. Effects of the duration of individual or group housing on behavioural and adrenocortical reactivity in male mice. **Physiol Behav**, v.21(5), p.757-760, 1978.
- MANCHADO-GOBATTO, F.B., GOBATTO, C.A., CONTARTEZE, R.V.L., MELLO, M.A.R. Non-exhaustive test for aerobic capacity determination in running rats. **Indian Journal Of Experimental Biology. New Delhi: Natl Inst Science Communication-niscair**, v.49(10), p.781-785, 2011.
- MCCRADY, S. K.; LEVINE, J. A. Sedentariness at work: How much do we really sit. **Obesity**, v.17(11), p.2103–2105, 2009.
- MONOD, H., SCHERRER, J. The work capacity of a synergic muscular group. **Ergonomics**, v.8, p.329–338, 1965.
- NOVAK, C. M., ESCANDE, C., BURGHARDT, P. R., ZHANG, M., BARBOSA, M. T., CHINI, E. N., BRITTON, S.L., KOCH, L.G., AKIL, H., LEVINE, J.A. Spontaneous activity, economy of activity, and resistance to diet-induced obesity in rats bred for high intrinsic aerobic capacity. **Horm Behav**, v.58(3), p.355-367, 2010.
- PARKER, V., MORINAN, A. The socially-isolated rat as a model for anxiety. **Neuropharmacology**, v.25(6), p.663-664, 1986.
- PEREZ-LEIGHTON, C.E., BOLAND, K., BILLINGTON, C.J., KOTZ, C.M. High and low activity rats: Elevated intrinsic physical activity drives resistance to diet-induced obesity in non-bred rats. **Obesity**, v.21(2), p.353-360, 2013.
- POLISEL, E.E.C., BECK, W.R., SCARIOT, P.P.M., PEJON, T.M.M., GOBATTO, C.A., MANCHADO-GOBATTO, F.B. Effects of high-intensity interval training in more or less active mice on biomechanical, biophysical and biochemical bone parameters. **Sci. Rep**, v.11(1), p.6414, 2021.
- SCARIOT, P.P.M., MANCHADO-GOBATTO, F.B., PROLLA, T.A., MASSELLI DOS REIS, I.G., GOBATTO, C.A. Housing conditions modulate spontaneous physical activity, feeding behavior, aerobic running capacity and adiposity in C57BL/6J mice. **Horm Behav**, v.115, p.104556, 2019.
- SCARIOT, P.P.M., MANCHADO-GOBATTO, F.B., TORSONI, A.S., TORSONI, M.A., DOS REIS, I.G., BECK, W.R., GOBATTO, C.A. Wide housing space and chronic exercise enhance physical fitness and adipose tissue morphology in rats. **Appl Physiol Nutr Metab**, v.40(5), p.489-492, 2015.
- SPANGENBERG, E.M., AUGUSTSSON, H., DAHLBORN, K., ESSEN-GUSTAVSSON, B., CVEK, K. Housing-related activity in rats: effects on body weight, urinary corticosterone levels, muscle properties and performance. **Lab Anim**, v.39(1), p.45-57, 2005.
- TESKE, J.A., BILLINGTON, C.J., KOTZ, C.M. Neuropeptidergic mediators of spontaneous physical activity and non-exercise activity thermogenesis. **Neuroendocrinology**, v.87(2), p.71-90, 2008.
- TESKE, J.A., BILLINGTON, C.J., KUSKOWSKI, M.A., KOTZ, C.M. Spontaneous physical activity protects against fat mass gain. **Int J Obes**, v.36(4), p.603-613, 2012.